

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Speciální chemicko-biologické obory

Studijní obor: Molekulární biologie a biochemie organismů



Veronika Bystrá

Mateřská imunitní odpověď na H-Y antigen a její důsledky pro potomky

Maternal immune responses to H-Y antigen and its consequences for offspring

Bakalářská práce

Školitelka: RNDr. Šárka Kaňková, Ph.D.

Praha, 2021

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechnu použitou literaturu a informační zdroje. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného, nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 4.8.2021

Podpis

Poděkování

Ráda bych poděkovala paní doktorce Šárce Kaňkové za odborné vedení při psaní této bakalářské práce, cenné rady, konzultace a velkou ochotu a trpělivost.

Abstrakt

H-Y antigeny jsou specificky mužské histokompatibilní antigeny, které jsou v lidském těle prezentovány glykoproteiny HLA-A2, HLA-B7 a HLA-B8. Pokud se dostanou do těla žen (např. transplantací nebo přenosem přes placentu z mužského plodu) mohou vyvolat aloimunitní reakci. Tato práce ve své první polovině popisuje mužské histokompatibilní antigeny, jejich molekulární podstatu a s tím související modulaci mateřského imunitního systému. V hlavní části se práce zaměřuje na vliv H-Y antigenů na potomky. Studie ukázaly, že právě mateřská imunitní reakce na H-Y antigeny v průběhu těhotenství by mohla být příčinou předčasných porodů, snížené porodní váhy, či sekundárně opakovaných potratů a následně i změn v sekundárním poměru pohlaví. Různé hypotézy přičítají těmto antigenům také podíl na vzniku autismu nebo homosexuality u mužů. Společným předpokladem pro všechny pozorované fenomény je to, že se matka v minulosti již setkala s mužskými buňkami, což při jejich opakovaném kontaktu vyvolalo nepřiměřenou mateřskou imunitní reakci.

Klíčová slova

H-Y antigen, aloimunita, těhotenství, sekundárně opakované potraty, poměr pohlaví, mužská homosexualita

Abstract

H-Y antigens are specifically male histocompatibility antigens, that are presented in the human body by glycoproteins HLA-A2, HLA-B7 and HLA-B8. If they reach the body of women (by transplantation or transfer through the placenta from a male fetus etc.), they can provoke an alloimmune reaction. In its first half, this thesis introduces the concept of alloimmunity, describes male histocompatibility antigens and their molecular nature, and the related modulation of the maternal immune system. In the main part, the thesis focuses on the effect of H-Y antigens on offspring. Studies have shown that it is the maternal immune response to H-Y antigens during pregnancy that could cause premature births, reduced birth weight, secondary miscarriages and consequently changes in the secondary sex ratio. Various hypotheses also attribute to these antigens the contribution to the development of homosexuality in men. A common precondition for all observed phenomena is that the mother has already encountered male cells in the past, which, when contacted repeatedly, provoked a disproportionate maternal immune response.

Key words

H-Y antigens, alloimmunity, pregnancy, secondary recurrent miscarriages, sex ratio, male homosexuality

Seznam zkratek

ESCs – embryonic stem cells

hCG – human chorionic gonadotropin

HLA – human leucocyte antigen

IDO – indolamin – 2,3 – dioxydáza

MHC – major histocompatibility complex

MIS – Müllerian-inhibiting substance

NLGN4 – neuroligin 4

(u)NK – (uterine) natural killers

PCDH11Y – protocadherin 11

SMCY – selected mouse cDNA on the Y

Sxr – Sex reversed

TCR – T- cell receptor

TGF β – transforming growth factor β

UTY - Ubiquitously Transcribed Tetratricopeptide Repeat Containing, on the Y

Obsah

Seznam zkratk	6
2. Aloimunitní reakce	2
2.1. MHC glykoproteiny	2
2.2. Aloimunitní reakce matky na plod v těhotenství	3
3. H-Y antigen	5
3.1. H-Y antigeny odvozené od genu SMCY	7
3.1.1. Gen SMCY	7
3.2.1. Freemartinismus	8
4. Modulace mateřského imunitního systému mužským embryem	9
4.1. Vliv H-Y antigenu na těhotenství	9
5. Souvislost H-Y antigenu a sekundárně opakujících se potratů	10
6. Vliv H-Y antigenu na poměr pohlaví	14
6.1. Primární a sekundární poměr pohlaví	14
6.2. Vliv H-Y antigenů na poměr pohlaví	15
7. Vliv H-Y antigenu na homosexualitu u mužů	17
8. Další jevy ovlivněné působením HY-antigenu v těhotenství a při porodu	20
8.1. Vliv H-Y antigenu na poruchy autistického spektra	21
9. Závěr	23
Seznam použité literatury	24

1. Úvod

Změny mateřského imunitního systému v průběhu těhotenství jsou předmětem studií již dlouhou řadu let. Jelikož je zárodek geneticky neidentický s matkou a nese si polovinu své genetické informace od otce, musí v mateřském organismu docházet k výrazným imunitním změnám, aby byl plod tolerován (Luppi, 2003). Ke studiím těchto změn se navíc přidává otázka, jak je možné, že systém, který za normálních okolností umožňuje zdárný průběh těhotenství, v některých případech selhává a dochází k opakovaným potratům (Christiansen, 1996). Zvláště zajímavé je, dochází-li k nim v případě, že matka dříve již dítě porodila (Christiansen & kol., 2004).

Postupně bylo pozorováno, že k potratům u žen, které již děti mají, dochází častěji v případě, kdy má žena prvorozeného syna než v tom, kdy má prvorozenou dceru (Christiansen & kol., 2004). Časem se prokázalo, že by významnou roli v tomto pozorovaném fenoménu mohly hrát mužské histokompatibilní antigeny (Christiansen & kol., 2004; Nielsen & kol., 2008; Nielsen & kol., 2009). S imunitní odpovědí žen na mužské plody byly tyto antigeny poprvé spojeny v padesátých letech minulého století Eichenwaldem a Silmersem (1955) a pět let poté, v roce 1960, byl na vztah mezi imunitní odpovědí ženy na mužské buňky, zapříčiněný H-Y antigenem, proveden první výzkum, který předpokládanou účast těchto buněk při imunitní reakci na mužskou tkáň potvrdil (Billingham & Silvers, 1960). Později se tato imunitní reakce začala podrobněji studovat nejen v souvislosti s potraty, ale celkově v souvislosti s možným dopadem na potomka.

Hlavním cílem této bakalářské práce bylo proto předložit ucelený literární přehled zaměřený na mateřskou imunitní odpověď na soubor mužsky specifických antigenů a na důsledky této reakce pro potomka. Jednotlivými dílčími cíli bylo shrnout poznatky o modulaci mateřského imunitního systému mužským embryem a zaměřit se na vliv H-Y antigenů na sekundárně opakované potraty, sekundární poměr pohlaví a jejich účasti při rozvoji poruch autistického spektra a vzniku mužské sexuální orientace.

2. Aloimunitní reakce

Aloimunitní reakce je reakce imunokompetentních buněk organismu na geneticky odlišnou tkáň druhého organismu (patřícího ke stejnému živočišnému druhu). Zodpovědnost za ně nesou hlavně MHC glykoproteiny (major histocompatibility complex). U lidí se tyto komplexy nazývají HLA (human leucocyte antigen). Vedle MHC glykoproteinů mají vliv na aloimunitní reakce organismu také další polymorfní tkáňové antigeny. Ty se obecně nazývají vedlejší histokompatibilní antigeny. Tento typ imunitní reakce bývá častým problémem při přijímání dárcovského transplantátu hostitelem, proto jsou na výběr vhodného dárce velmi přísná kritéria a hostitelům bývá uměle, pomocí imunosupresiv, snižována činnost imunitního systému. Další problémy způsobené aloimunitními reakcemi mohou nastat v těhotenství. V tomto případě kvůli rozdílnému genotypu embrya a matky, což může vést k poškození, nebo dokonce až k potracení plodu (Hořejší & kol., 2009).

2.1. MHC glykoproteiny

MHC glykoproteiny se dělí na dvě třídy – MHC glykoproteiny I. třídy a MHC glykoproteiny II. třídy. MHC glykoproteiny I. třídy se skládají z α řetězce, jehož N-terminální domény α_1 a α_2 vytváří vazebné místo pro antigenní peptidy. Na tento řetězec se nekovalentně váže další, menší řetězec β_2 -mikroglobulin. Jednotlivé glykoproteiny se od sebe liší v α řetězcích, β -mikroglobuliny jsou v jednotlivých MHC glykoproteinech stejné. U lidí jsou nejčastějšími komplexy I. třídy HLA-A, HLA-B a HLA-C, ze kterých HLA-B je ten nejvíce polymorfní (Chapel & kol., 2013). Tyto glykoproteiny se vyskytují na površích všech jaderných buněk. Jejich úlohou je prezentovat antigenní peptidy cytotoxickým T-lymfocytům (konkrétně T-lymfocytům $CD8^+$). Váží různé peptidy (virové, bakteriální i buňky vlastní), které spojuje endogenní (pocházející z vnitřku buňky) původ (Li & Jevnikar, 2015).

MHC glykoproteiny II. třídy se skládají ze dvou řetězců α a β , které jsou spolu nekovalentně spojené. N-terminální domény, které oba řetězce obsahují, spolu tvoří vazebné místo pro antigenní peptid, které je strukturně podobné tomu u MHC glykoproteinů I. třídy. U lidí jsou nejčastější glykoproteiny II. třídy HLA-D, HLA-DQ a HLA-DR (Chapel & kol., 2013). Tyto glykoproteiny váží převážně peptidy pocházející z vnějšku buňky (exogenní). Nacházejí se, mimo jiné, na površích bílých krvinek a podílí se na vytváření specifické imunity. Jsou prezentovány T-lymfocytům $CD4^+$ (Li & Jevnikar, 2015).

Obecně tedy MHC glykoproteiny navazují peptidové fragmenty, které buňka buď vyprodukovala, nebo pohltila, na výše zmiňovaná vazebná místa. Následně je vystaví na povrchu dané buňky a odhalené fragmenty mohou být rozpoznány antigenně specifickými receptory T-lymfocytů (TCR). To zapříčiňuje polymorfismus buněk (Hořejší & kol., 2009). Alogenní buňky jsou díky MHC glykoproteinům a jejich činnosti vysoce polymorfní a imunitní systém se k nim tak může chovat jako například k buňkám napadeným virem (Li & Jevnikar, 2015).

2.2. Aloimunitní reakce matky na plod v těhotenství

Při oplození spolu splývají dvě pohlavní buňky, matčina a otcova. Lidský genom je diploidní a tedy od každé z pohlavních buněk zárodek přijímá jednu sadu chromosomů. To znamená, že vzniklé embryo je s matkou geneticky neidentické a matčin imunitní systém by na něj po implantaci mohl reagovat jako například na infekci (Ander & kol., 2019). Podobný problém je řešen u transplantací, kde kromě pečlivého výběru dárce je třeba potlačit imunitní systém hostitele pomocí imunosupresiv. Na rozdíl od transplantací je v případě těhotenství vytvořeno několik mechanismů, jak plod před nevhodnou imunitní reakcí matky ochránit a není třeba matčinu imunitu uměle tlumit.

Způsoby ochrany plodu před nevyžádanou imunitní odpovědí matky byly popsány již v roce 1953 (Medawar) a jistou měrou platí dodnes, jsou tři: (1) anatomická oddělenost matky od zárodku, (2) buňky trofoblastu, které neexprimují klasické MHC glykoproteiny I. třídy, (3) vytvořená tolerance mateřského organismu k plodu.

První způsob ochrany, anatomická oddělenost matky a plodu, zajišťuje, že se k samotnému embryu dostane jen velmi malé množství mateřských leukocytů, které mají funkci zprostředkovávat imunitní odpovědi. Pokud by se jich k plodu dostalo větší množství, mohlo by se stát, že na něj imunitní systém matky zaútočí a dojde k jeho poškození, nebo dokonce k potratu (Kumpel & Manoussaka, 2011). Ovšem i přesto, že je cévní systém plodu od mateřského oddělen, výzkum ze šedesátých let (Desai & Creger, 1963), ve kterém byla devíti těhotným ženám odebrána krev, označena pomocí látky Atabrin a vrácena do oběhu, ukázal, že malé množství lymfocytů, trombocytů a granulocytů je schopné se dostat přes placentu k plodu. Důkazem byly označené částice z těl matek, indikované v odebrané pupečnickové krvi. Přenos funguje i naopak, malé množství plodových buněk se dostává do těla matky.

Dále buňky zárodečného obalu – trofoblastu, konkrétně jeho dvou podmnožin, cytotrofoblastu (vnitřní vrstva trofoblastu skládající se z jednotlivých oddělených buněk poskládaných vedle sebe) a z něj tvořené vrstvy buněk syncytiotrofoblastu (mnohoaderné syncytium, tvořící vnější vrstvu trofoblastu a zprostředkovávající přímý kontakt s placentou), chrání zárodek tím, že na svém povrchu neexprimují klasické MHC glykoproteiny I. třídy (tj. HLA-A, HLA-B, HLA-C). Přítomnost těchto MHC glykoproteinů na povrchu buněk trofoblastů by mohla zalarmovat cytotoxické NK-buňky (natural killer), následkem čehož by bylo vyhodnocení buněk plodu jako nežádoucích a jejich napadení. Proto se na povrchu daných trofoblastických buněk exprimuje méně klasické HLA-G. Tento typ HLA se váže na inhibiční molekuly NK buněk a je také méně polymorfní než klasické MHC I. třídy, což poskytuje další výhodu při ochraně plodu před nevyžádanou reakcí mateřského imunitního systému (Bouteiller & kol., 1996).

Třetí způsob ochrany plodu před nežádoucí imunitní odpovědí matky, souvisí se změnami samotného mateřského imunitního systému. V minulosti byl zastáván názor, že placenta je imunitně neaktivní orgán (Mor & Cardenas, 2010). V současné době již bylo prokázáno, že to není pravda, a že produkuje speciální buňky a látky, které se mohou účastnit dočasné modulace imunitního systému matky a tím se na něm aktivně podílí (Racicot & kol., 2014). Placenta například produkuje speciální NK buňky (tzv. uNK- uterine natural killer). Obecně jsou NK buňky schopny v těle rozeznat buňky s malým množstvím MHC glykoproteinů na svém povrchu a zničit je. Ovšem zmiňovaná forma uNK, která je přítomna v děloze, kde se vyskytuje nejvíce na začátku gravidity, má odlišnou funkci. Je to proto, že na svém povrchu exprimuje jiné receptory než NK buňky v dalších částech těla. Navíc díky HLA-G, exprimovanému na povrchu embryonálních buněk, se množství MHC glykoproteinů I. třídy na membránách zvýší a uNK nemají důvod tyto buňky vyhodnotit jako cizí. Z těchto důvodů jsou uNK méně toxické než klasické NK buňky.

Další funkcí uNK buněk je produkce cytokinů, které mohou ovlivňovat proliferaci a diferenciaci buněk trofoblastu a jejich pohyby při vytváření placenty (King & kol., 1996). Dále se podílejí na obnově, růstu a udržování děložní sliznice, kdy dochází k jejich interakci s HLA-G glykoproteiny, což zapříčiňuje stimulaci některých podmnožin uNK buněk, podílejících se na produkci růstových faktorů. Jsou to konkrétně podmnožiny CD49a⁺ a Eomes⁺. Jsou aktivní i při regulaci invaze trofoblastů do spirálních tepen matky. To je proces, díky kterému se cytotoxické NK buňky z těla nedostanou k plodu, což je důležité pro jeho správný vývoj (Fu & kol., 2018).

Další látka, pocházející z placenty je speciální forma estrogenu (ženský pohlavní hormon) estriol, který je, díky tomu, že je placenta jeho jediným producentem, typický pro těhotenství. Tento hormon je jednou ze tří aktivních forem estrogenu (spolu s estronem a estradiolem). Na imunitních buňkách lze nalézt receptory pro tyto aktivní formy estrogenu, a proto mohou imunitní odpověď aktivovat, nebo inhibovat (Peterson & kol., 2020). Roli může hrát také interferon typu I., což je imunomodulátor, který může rozpoznávat a reagovat na různé virové i bakteriální infekce, nebo na cizorodé buňky v těle (včetně embrya) (Racicot & kol., 2014). Důležitá je i produkce enzymu IDO (indolamin-2,3-dioxydasa). Tento enzym je produkován vrstvou syncytiotrofoblastů v placentě. Bylo zjištěno, že se začíná produkovat kolem čtrnáctého týdne gravidity a jeho vytváření přetrvává až do konce těhotenství (Kamimura & kol., 1991). IDO negativně ovlivňuje proliferaci mateřských T-lymfocytů a katalyzuje první krok v metabolismu tryptofanu. Souvislost mezi katabolismem tryptofanu pomocí buněk, které exprimují enzym IDO a tolerancí buněk plodu, které byly přeneseny do těla matky jejími T-lymfocyty, byla prokázána již v roce 1998 (Munn & kol.).

V souvislosti s ochranou plodu před imunitní odpovědí matky vědci dále zjistili, že buňky prezentující různé antigeny (např. dendritické buňky, nebo makrofágové) fungují v děloze s menší účinností než na jiném místě v těle. Při decidualizaci (tj. zesilování děložní sliznice vlivem hormonu progesteronu a příprava na nidaci oplozeného vajíčka) se snižuje počet dendritických buněk, následkem čehož je zabráněno aktivaci jejich T-buněk a imunitní odpověď je tímto utlumena (Collins & kol., 2009).

Mateřský imunitní systém dále musí překonat, že v děloze dochází k proliferaci mnoha buněk imunity, jako makrofágy, lymfocyty a, již zmiňované NK buňky. Po početí počet těchto imunitních buněk narůstá v důsledku působení hormonů hCG, progesteronu, estrogenu, prolaktinu atd. (Hunt, 1994). Navíc si plod postupně začíná tvořit vlastní obranné mechanismy a tělo matky tedy musí být připraveno na přítomnost dvou imunitních systémů, svého a fetálního.

3. H-Y antigen

H-Y antigen je specificky mužský histokompatibilní antigen, přesněji se jedná o soubor těchto antigenů. První zmínka, která tyto antigeny spojuje s imunitními reakcemi v ženském těle, cílícími na mužské buňky, nebo tkáně je již z roku 1955 (Eichenwald & Silmsen), podrobněji popsány byly však až výzkumem v roce 1960 (Billingham & Silvers) a od té doby jsou více studovány. Patří mezi ně antigeny na povrchu prakticky všech mužských buněk, které

jsou u lidí kódovány geny SMCY, nebo UTY, lokalizovanými na mužském pohlavním chromosomu Y. Lidské H-Y antigeny jsou prezentovány glykoproteiny HLA-A2, HLA-B7 (kódovány genem SMCY) a HLA-B8 (kódován peptidem LPHNHTDL z genu UTY) (Warren & kol., 2000). Jejich přítomnost může vyvolat reakci cytotoxických T-lymfocytů, hlavně CD8⁺ a CD4⁺ (Wang & kol., 1995).

Dále byla objevena rozpustná forma tohoto antigenu (Zenzes & kol., 1978). Ta je specifická, na rozdíl od antigenů na povrchu buněk, pro buňky mužských pohlavních žláz (podrobněji viz kapitola 3.2). Je produkována Sertoliho buňkami ve varlatech a protilátky na ni reagují stejně, jako reagují na MIS (Müllerian-inhibiting substance).

Přítomnost H-Y antigenů může zapříčinit problémy s přijmutím transplantátu (orgánu, kožního, cévního, nebo jiného štěpu a dokonce i kostní dřeně), pokud je dárce muž a příjemcem žena, a to i v případě, že se jinak geneticky shodují. Tento problém byl objeven již před více než šedesáti lety při pokusu na myších (Eichwald & Silmsen, 1955). Bylo zjištěno, že kožní štěpy od samců, které byly vpravené samicím, jsou odmítány mnohem častěji a silněji, než když byly přenosy prováděny mezi stejným pohlavím. Souvislost mezi komplikacemi při transplantacích, v případě, že je dárce muž a příjemkyně žena, byla v průběhu let předmětem řady studií (Simpson, 1982; Miklos & kol., 2005; Dierselhuys, 2009; McGee & kol., 2011; Presland, 2016), které potvrdily jejich propojení. I recentní výzkum (Hu & kol., 2020), prováděný na myších, přinesl podobné závěry. V rámci něj byly samicím i samcům injikovány samčí ESCs (embryonální kmenové buňky), které obsahují H-Y antigeny. Ukázalo se, že u sledovaných samic byla imunitní reakce na tyto buňky několikanásobně vyšší než u sledovaných samců. Navíc bylo zjištěno, že samčí ESCs, dokážou u samic po injekci vyvolat jak T-imunitní reakci, tak do jisté míry i B-imunitní reakci. Ve stejné studii bylo dále prokázáno, že lze u samic na tyto antigeny vyvinout alespoň částečnou toleranci, pokud se novorozené myši – samice, podají embryonální kmenové buňky od samčího embrya. Myši, kterým byly hned po narození samčí embryonální kmenové buňky podány, vykazovaly nižší citlivost imunitního systému po injekci samčími ESCs v dospělosti.

3.1. H-Y antigeny odvozené od genu SMCY

H-Y antigeny odvozené od genu SMCY jsou produkovány všemi buňkami, včetně spermií, savčích samců s pohlavními chromosomy XY. Antigeny se nachází na povrchu buněk, kterými jsou produkovány, kde jsou vázány pomocí dimerů β_2 -mikroglobulinu (Ohno, 1977). Antigeny tohoto typu jsou rozpoznávány cytotoxickými T-buňkami a mohou způsobit reakci štěpu proti hostiteli, proto se jim také říká „H-Y transplantační antigeny“ (Müller & kol., 1993). V lidském organismu jsou H-Y antigeny, kódované částí SMCY genu, prezentovány pomocí glykoproteinů HLA-A2 a HLA-B7. V případě HLA-B7 byl H-Y antigen rozpoznán jako 11-zbytkový peptid odvozený od genu SMCY (Wang & kol., 1995).

3.1.1. Gen SMCY

Na mutantních myších Sxr^a a Sxr^b (sex-reversed – myši, u kterých došlo ke ztrátám genů, které se podílí na vytvoření gonád, tyto myši mají gonády jednoho pohlaví, ale jiné fyziologické charakteristiky mají jako pohlaví druhé) byl prováděn výzkum zaměřený na geny důležité pro spermatogenezi, včetně genů pro H-Y antigen (Agulnik & kol., 1994). Zkoumanou částí byl deleční interval ΔSxr^b , na kterém je lokalizován například gen Sry, determinující vývoj samčích pohlavních orgánů, nebo spermatogenetický faktor Spy. Interval ΔSxr^b se nachází v oblasti krátkého raménka samčího pohlavního chromosomu Y. Izolovaná DNA z tohoto delečního intervalu byla klonována pomocí kosmidů (plazmidy obsahující cos sekvenci, které se užívají jako vektory ke klonování (Collins & Hohn, 1978)) a využita k selekci cDNA. Při dalším zkoumání bylo zjištěno, že gen pro H-Y antigen je v Sxr^a myších detekován v oblasti, kde je u Sxr^b myší deleční interval ΔSxr^b , spolu s ním byly v této oblasti detekovány další tři specificky samčí fragmenty a to Zfy-1, Zfy-2 a Ubely-1. Objevený gen byl pojmenován SMCY (selected mouse cDNA on the Y) a na rozdíl od ostatních genů se na Y chromosomu vyskytuje pouze jedna jeho celistvá kopie. Na X chromosomu byl objeven homolog tohoto genu, pojmenovaný SMCX. Pomocí primeru z cDNA z myší (primerem byl pár S2Y/S3Y) byl gen SMCY zjištěn také u lidí a koní.

K potvrzení výzkumu, který označil SMCY jako gen pro H-Y antigen, byla využita reakce T-lymfocytů na tento antigen a to tak, že kosmidy s klonovanou DNA z oblasti ΔSxr^b byly zavedeny do ženských buněk P1Htr exprimujících H-2K^k geny (CITACE již zde). Dále byly kosmidy vystaveny dvěma typům specifických T-buněk H-YK^k – C6 a 2A11. Tato studie ukázala, že buňky transfektované kosmidem s nejvyšším podílem SMCY stimulují oba typy T-lymfocytů. Ostatní kosmidy buď specifické T-buňky nestimulovaly vůbec, nebo v nízké míře,

podle velikosti podílu genu SMCY. K upřesnění identifikace epitopu H-YK^k byly porovnány sekvence aminokyselin na SMCY se sekvencemi aminokyselin, které se nacházejí na SMCX a jsou kódovány stejným fragmentem. Studie ukázala, že epitop H-YK^k, který je exprimován genem SMCY, je peptid TENSGKDI (Scott & kol., 1995).

3.2. Rozpustná forma H-Y antigenu

H-Y antigeny se nevyskytují pouze na povrchu mužských buněk. Bylo zjištěno, že existuje i rozpustná forma antigenů. Tato forma se neváže na membrány všech buněk, receptory pro její navázání mají pouze buňky gonád (tj. párových pohlavních orgánů, produkujících pohlavní hormony). Přesto, že se jedná o receptory pro specificky mužský histokompatibilní antigeny, jsou přítomny na gonádových buňkách jak u XY samců, tak i u XX samic savců. Rozdíl je v neschopnosti buněk samičích gonád vytvořit H-Y antigeny, takže jsou jejich receptory za normálních okolností nevyužity (Ohno, 1977). Rozpustná forma histokompatibilního antigenu je vytvářena v Sertoliho buňkách ve varlatech. Nebylo prokázáno, že by Sertoliho buňky měly další vazebná místa pro navázání mužských H-Y antigenů přicházející z vnějšku buňky. Jejich membrány jsou saturované endogenní produkcí příslušného antigenu (Müller & kol., 1978).

Ukázalo se, že rozpustná forma H-Y antigenu je stejná jako anti-Müllerův hormon, neboli MIS (Müllerian inhibiting substance) (Müller & kol., 1993). Anti-Müllerův hormon je hormon gonadotropní a patří do genové rodiny TGFβ (transforming growth factor). Je to hormon, který v prenatálním vývoji pohlavních vývodů inhibuje u savčích samců vývoj Müllerových kanálků. Po zastavení jejich vývoje se zapojí hormon testosteron, který se účastní vývoje chámovodů z Wolfových kanálků. Protože samice tento hormon neprodukují, tak se u nich z Müllerových kanálků vyvíjejí části pohlavní soustavy (Jost, 1947).

3.2.1. Freemartinismus

Rozpustný typ antigenu pravděpodobně může za maskulinizaci u krav, které pochází ze smíšených dvojčat. Jedná se o fenomén zvaný freemartinismus, který je znám již od 18. století (Hunter, 1779). Tito jedinci jsou intersexuální. Mají vaječníky, které jsou do různé míry zdeformované a nejsou schopni plodit potomky. Vzhledem připomínají spíše krávy, ale s jistou mírou maskulinizace. K vývoji freemartina dojde při propojení placentárních krevních oběhů dvojčat, přičemž hormony stimulující vývoj samčích pohlavních orgánů ovlivní vývoj samičího dvojčete. Je to proto, že samčí pohlavní orgány se v prenatálním vývoji vyvíjí dříve než

pohlavní orgány samičí. Studie z roku 1980 (Wachtel & kol.) ukazuje, že právě H-Y antigen by mohl být příčinou tohoto fenoménu. Vědci toto tvrzení podkládají tím, že antigen byl objeven jak v séru plodu býka, tak v séru plodu jedince freemartina, ale neobjevuje se v séru plodu krávy. Dále bylo zjištěno, že reakce H-Y antigenu a jeho receptoru signalizuje testikulární organogenezi na gonádě XY i XX, protože potřebné receptory mají buňky gonád obou pohlaví. K maskulinizaci krav pocházejících ze smíšených dvojčat tedy dochází, když se H-Y antigeny vytvořené ve varlatech dostanou přes vaskularizované anastomózy do buněk ve vaječnících dvojčete, kde jsou rozpoznány patričními receptory. Býk, pocházející z takových dvojčat, není freemartinismem nijak ovlivněn.

4. Modulace mateřského imunitního systému mužským embryem

Těhotenství s sebou pro ženské tělo přináší řadu změn, které zajišťují úspěšné donošení plodu a následný porod. Již před implantací dochází v průběhu ovulačního cyklu, působením hormonu progesteronu, k zesilování děložní sliznice, která se připravuje na nidaci oplozeného vajíčka. Pokud k tomu nedojde, neoplozené vajíčko spolu s odlupujícími se částmi děložní sliznice a krví odchází z těla v podobě menstruačního krvácení. V případě, že k oplození vajíčka dojde, zahnízdí se ve vrchní části dělohy. Poté, pokud těhotenství postupuje správně, se tělo matky začne adaptovat na novou situaci. Tyto adaptace napomáhají správnému průběhu těhotenství a vývoji dítěte.

Změny, kterými matka v těhotenství prochází, se týkají celého těla. Například je potřeba, aby endokrinní systém zajistil produkci pro těhotenství důležitých hormonů, jako jsou estrogen, progesteron, hCG (choriový hormon), adrenokortikotropní hormon, relaxin, prolaktin a další. Dále se přizpůsobuje cévní soustava a krevní oběh, dýchací soustava, žena přibírá na váze a může trpět nevolností a nechutenstvím (Carrillo-Mora & kol., 2021). Změnou musí projít také imunitní systém, protože, jak již bylo zmíněno, tělo matky by jinak mohlo na plod reagovat jako například na tkáň napadenou infekcí.

4.1. Vliv H-Y antigenu na těhotenství

H-Y antigen je specifický pro muže, proto je jím těhotenství ovlivněno pouze v případě, že vyvíjející se plod je chlapec. Buňky plodu se mohou dostat v malém množství přes placentu do matčina organismu, kde zůstávají. V periferní krvi matky se dá mužský antigen detekovat již velmi brzy během těhotenství. Podle studie z roku 1994 (Thomas & kol.) je mužská DNA detekovatelná v těle matky již čtyři týdny po početí, tedy v době, kdy ještě není možné rozeznat

pohlaví dítěte pomocí standartních těhotenských vyšetření. Dále bylo zjištěno, že buňky plodu nepřetrvávají v těle matky pouze v průběhu těhotenství, ale zůstávají v mateřském organismu i po porodu. Výzkum (Bianchi & kol., 1996) ukázal, že buňky mužského plodu, společně s H-Y antigeny mohou zůstat v organismu matky skoro tři desetiletí. Tyto buňky byly detekovány i v organismech žen, u nichž bylo těhotenství uměle předčasně ukončeno.

Pokud se tyto histokompatibilní antigeny dostanou do mateřského organismu a jsou na ně vytvořeny protilátky, to může ovlivnit dalšího potomka dané ženy. Problematicke, jak mohou být těmito antigeny ovlivněni potomci v závislosti na předešlých těhotenstvích matky se věnují následující kapitoly.

5. Souvislost H-Y antigenu a sekundárně opakujících se potratů

Jako opakované potraty se označují případy, kdy dojde ke třem a více spontánním ukončení těhotenství za sebou. Dají se rozdělit na primární a sekundární. V případě opakovaných potratů sekundárních daná žena před sérií nezdařených těhotenství již porodila potomka. U opakovaných potratů primárních tomu tak není – u těchto žen nikdy nedošlo k donošení dítěte. Problém se týká přibližně jednoho procenta párů, pokoušející se o dítě, které se ovšem neoznačují jako neplodné, neboť k samotnému početí u nich dochází (Rai & Regan, 2006).

Zatímco nejčastější příčinou primárních opakovaných potratů jsou různé chromosomové abnormality (Garrido-Gimenez & Alijotas-Reig, 2015), příčiny opakovaných potratů sekundárních jsou pravděpodobně nejčastěji v mateřském imunitním systému a jeho reakci na plod (Shapira & kol., 2012). Na imunitní příčiny existuje léčba, při které se využívají intracelulární imunoglobuliny, snažící se neutralizovat protilátky reagující na plod. Tato léčba se ukazuje jako poměrně účinná v případech sekundárních opakovaných potratů. Oproti tomu u opakovaných potratů primárních její výsledky moc dobré nejsou. Tento fakt podporuje tvrzení, že příčiny sekundárního opakovaného potracení jsou imunitní, zatímco těch primárních nikoli (Hutton & kol., 2006).

Jednou z možných imunologických příčin opakujících se abortů druhého a dalšího potomka, může být reakce na H-Y antigeny v těle matky, jejich rozpoznání mateřským imunitním systémem a následná nepřiměřená reakce na embryo, nebo plod (Tekolf & Shaw, 1984). Pokud totiž žena v průběhu předešlého těhotenství odnáší potomka mužského pohlaví, nebo se alespoň po nějaký čas v jejím těle vyvíjí mužský zárodek, dochází k tomu, že HY-

antigeny tohoto plodu jsou rozpoznány mateřskými imunitními buňkami. Tento děj většinou vede k vybudování tolerance k antigenům (Kahn & Baltimore, 2010), což je důležité pro správný průběh a dokončení gravidity. V některých případech se ovšem mohou začít vytvářet netypické obranné mechanismy, které mohou způsobit problémy při dalším těhotenství s mužským zárodkem. Místo tolerance na dané antigeny dochází k senzibilizaci na ně (Nielsen, 2011).

Studie ukazují, že v případě sekundárně opakujících se potratů mají mnohem vyšší šanci na donošení dítěte ženy, jejichž prvorozeným potomkem byla dívka než ty, kterým se narodil syn. Ve výzkumu publikovaném v roce 2004 (Christiansen & kol.), ve kterém byla analyzována data shromážděná od roku 1986 do roku 1999 (část informací byla získána retrospektivně z lékařských záznamů, část se získávala prospektivně v průběhu vyšetření a pozorováním respondentek), bylo sledováno 182 sekundárně opakovaně potrácejících žen. Autoři studie zjistili, že pouze 58 % z těchto žen s dříve narozeným synem úspěšně odnosilo a porodilo dalšího potomka. Oproti tomu u matek s prvorozenými dcerami byla úspěšnost dalšího těhotenství 76 %. Počet potratů a riziko sekundární neplodnosti byly, dle této studie, významně vyšší u žen s prvním dítětem mužského pohlaví než u žen s prvním dítětem ženského pohlaví. Bylo navrženo, že za tento nepoměr mohou právě specificky mužské histokompatibilní antigeny. Kromě vlivu H-Y antigenů autoři dále diskutují nad možným kulturním vlivem na tento jev. Páry, které mají dceru, mají větší snahu počít a porodit dalšího potomka – syna, jakožto preferované pohlaví. Matky s prvorozenou dívkou tedy znovu otěhotní častěji, a proto častěji dítě donosí. Tento faktor by pravděpodobně mohl hrát roli například v některých zemích Asie, ovšem výzkum byl prováděn v Dánsku a autoři proto názor ihned vyvrací a v dalších publikacích (Nielsen & kol., 2008, Nielsen & kol., 2009) již není předmětem diskuzí.

Výzkum byl stejnou skupinou vědců zopakován mezi lety 2000 až 2005, kdy byl navíc zohledněn i věk matky, respektive byly vybrány ženy, u kterých nefiguroval rizikový faktor v podobě vysokého věku (98 % ze zkoumaných žen bylo mladších než 40 let) (Nielsen & kol., 2008). Dále se brala v úvahu případná změna partnera a využití a účinky imunologické léčby. Zatímco věk matek a změna partnera nezpůsobily výrazné odchylky od předpokládaného výsledku, předpovídaného podle výsledků studie z roku 2004, využití imunologické léčby zvýšilo celkové množství narozených potomků po sérii potratů, a to jak u matek prvorozených synů, tak u matek prvorozených dcer. V tomto případě 63 % žen s prvorozeným synem úspěšně, po sérii potratů, donosilo další dítě. U matek s dříve narozenými dívkami bylo za stejných

podmínek úspěšných dokonce 84 %. Je tedy opět, jako ve výsledcích studie z roku 2004, patrný vliv pohlaví prvního potomka.

Role HY-antigenů při sekundárních opakovaných potratech byla předmětem i další studie z roku 2009 (Nielsen & kol.), která zkoumala souvislost mezi HLA alelami demonstrujícími HY-antigeny cytotoxickým T-lymfocytům u sekundárních opakujících se potratů. Již byl znám fakt, že druhé a další těhotenství může být ovlivněno dřívějším narozením chlapce, a tedy i přítomností příslušných antigenů i HLA alel v těle matky. Vědci zjišťovali, do jaké míry jsou pohlavím prvního dítěte tyto potraty ovlivněny a jak tento jev funguje. Bylo zjištěno, že přenos alel HLA I. třídy přes placentu nemá významný vliv na úspěšné ukončení těhotenství po sérii potratů, ani se výrazně neliší u žen s prvorozeným synem a prvorozenou dcerou. Studie ovšem odhalila, že přenos alel pro HLA II. třídy tento vliv má, a to především u matek s již dříve narozeným chlapcem. Míra úspěšnosti donošení a narození dítěte po opakovaných abortech byla o 29 % vyšší u rodiček s prvorozenou dcerou než u těch s prvorozeným synem, u nichž byla zjištěna vysoká míra transportu alel HLA II. třídy. Dále studie ukázala, že opravdu relevantní vliv na sekundární opakované potraty a případné narození dalšího dítěte má kombinace potvrzené přítomnosti příslušné HLA alely u matky s prokázanou homozygotní kombinací stejných HLA alel u jejího prvorozeného syna. Snižování pravděpodobnosti narození potomka po sérii abortů se předpokládá i v případě, že dříve potracené plody byly chlapci, neboť i v tomto případě se přesunem přes placentu mohly alely HLA II. třídy z mužských plodů dostat do matčina těla. To podporuje dřívější studie (Bianchi & kol., 2001), kde byly mužské buňky s HY-antigeny detekovány v periferní krvi u žen poté, co podstoupily umělé přerušení těhotenství. Lze předpokládat, že potracené plody zkoumaných žen byly mužské.

Vliv HY-antigenů na neúspěšné dokončení těhotenství potvrzují i recentní výzkumy. V roce 2016 byla publikována studie (Kolte & kol., 2016) potvrzující a rozšiřující hypotézu vlivu mužských histokompatibilních antigenů na potratovost a šanci donosit dítě po sérii abortů. U všech respondentek bylo provedeno důkladné vyšetření a byly u nich vyloučeny všechny obvyklé důvody potracení plodů. Bylo zjištěno, že ženy, které ve svém organismu nemají přítomné alely HLA II. třídy mají stejnou pravděpodobnost na donošení a porod, ať je jejich první dítě chlapec či děvče. Pokud jsou naopak alely HLA II. třídy přítomny, začnou demonstrovat HY-antigen cytotoxickým T-lymfocytům. Tím je výrazně snížena šance donošení dalšího potomka u matek s dříve narozenými syny. U žen s dříve narozenými dcerami

nebyla prokázána souvislost s přítomností alel HLA II. třídy a sekundárními opakovanými potraty.

V současné době se ke zkoumání přenosu HY-antigenů z plodu na matku přidává hypotéza, že by si matka mohla nést příslušné antigeny a alely HLA genů již z dětství, přenesené přes matku od staršího bratra. Tuto hypotézu potvrdily výsledky recentní studie (Norgaard-Pedersen & kol., 2021), ve které byly buňky staršího sourozence detekovány jak v těle matky, tak v těle sourozence mladšího. Výzkum se zabýval vlivem HY-antigenů na sekundární opakované potraty a na různé možnosti přenosu tohoto antigenu do těla matky. Byla zkoumána závislost sekundárních opakovaných potratů a přítomnosti dříve narozeného syna, nebo staršího bratra matky. Studie ukázala, že 79,1 % respondentek buď v minulosti porodila chlapce, má staršího bratra (se kterým má společné oba rodiče, nebo alespoň matku), nebo oboje. Tento výsledek podporuje předpoklad, že přítomnost HY-antigenů u matek hraje roli v problematice sekundárních opakovaných potratů. Cizorodé buňky byly výjimečně odhaleny i v organismech žen, které neměly ani staršího bratra, ani prvorozeného syna. Vysvětlením by mohl být již zmiňovaný přenos buněk z dříve potracených chlapeckých plodů, nebo dokonce přenos z potracených chlapeckých plodů od respondentčiny matky, které byly potraceny před narozením sledované ženy.

Objevil se také názor, že přenos buněk mezi plodem a matkou a s ním i přenos mužských histokompatibilních antigenů má i jiné opodstatnění než adaptaci mateřského imunitního systému na plod, nebo negativní dopady při potratech a různých těhotenských problémech. Gammil & kol. (2014) navrhuje, že mikrochimerní buňky (geneticky odlišné buňky jednoho organismu, nacházející se v organismu druhém) jednotlivých potomků na sebe v době druhého (a dalšího) těhotenství reagují a probíhá mezi nimi pomyslný konkurenční boj. Výsledkem je regulace času mezi dvěma porody, za účelem maximalizace množství mateřských zdrojů pro jednoho potomka a nedělení jich mezi sourozence. Podle studie z roku 2014 (Haig) by sekundárně opakované potraty mohly být alespoň částečně zapříčiněny tím, že se plodové buňky v matčině těle snaží, za využití H-Y antigenů, protáhnout dobu mezi těhotenstvími a zvýšit tak inkluzivní fitness muže, z něž původně pocházejí.

6. Vliv H-Y antigenu na poměr pohlaví

6.1. Primární a sekundární poměr pohlaví

Rozlišují se dva hlavní pojmy, primární poměr pohlaví a sekundární poměr pohlaví. Existují i terciární a kvartérní poměry pohlaví, na ty se ovšem tato práce zaměřovat nebude. Primární poměr pohlaví je poměr počtu chlapeckých ku dívčím zygotám. Tento poměr se nedá přesně určit, protože ještě před rozpoznáním těhotenství dochází k spontánním, pohlavně selektivním potratům. V dřívějších studiích byl tento poměr odhadován na 120:100 ve prospěch chlapců (McMillen, 1979), u časných embryí byl zjištěn pohlavní index 1,64. Oproti tomu, index u již porozených dětí byl 1,17. Výsledky ukazují, že výrazně vyšší mortalita mužského pohlaví oproti ženskému se děje hlavně v období organogeneze (Kellokumpu-Lehtinen & kol., 1984).

Recentní, velmi obsáhlá studie z roku 2015 (Orzack & kol.), ovšem uvádí, že primární poměr pohlaví by mohl být vychýlen ve prospěch ženských zygot, a to v poměru 100:105. Podle tohoto výzkumu se nemohou embrya počítat všechna společně, je rozdíl mezi normálními a abnormálními (abnormality se uvádí v souvislosti s patnáctým, sedmnáctým a pohlavními chromosomy), kdy v případě embryí abnormálních je poměr vychýlen na mužskou stranu u embryí normálních naopak na ženskou. Studie také, na rozdíl od starších předpokladů, uvádí, že ženské zárodky jsou potráceny častěji než ty mužské.

Sekundárním poměrem pohlaví se rozumí počet všech narozených chlapců ku všem narozeným dívkám, započítávají se i děti narozené mrtvé. Jako ideální by se považoval poměr roven jedné, tedy na jednoho každého narozeného chlapce by připadla jedna narozená dívka. Tak tomu ale není, neboť sekundární poměr pohlaví je vychýlen ve prospěch chlapců. Podle webové stránky *Our world in data* je momentální sekundární poměr pohlaví celosvětově 100 dívek ku 105 chlapcům, hodnota poměru je 1,05 (Our world in data, 2017). Jedná se o průměrnou hodnotu, existují i státy s větším rozdílem. Nevyšší počet narozených chlapců, sto jedenáct ku stu narozeným dívkám má Čína a Indie, hned za nimi s hodnotou 1,1 (110:100) je Arménie a Grenada. Z Evropských států je nejvýše San Marino s poměrem 109 chlapců ku 100 dívkám. Výjimkou je malý ostrovní stát Nauru, kde je sekundární poměr pohlaví 84:100 ve prospěch dívek (CIA-The world fact book, 2020). V České republice je sekundární poměr pohlaví na hodnotě světového průměru, rodí se průměrně 105 chlapců na 100 dívek (Český statistický úřad, 2020). Vlivem různých vnější i vnitřních faktorů sekundární poměr pohlaví

u lidí kolísá (Jacobsen, 1999). Tyto změny bývají často vysvětlovány ultimátními nebo proximátními příčinami, které se ovšem navzájem nevylučují. Ultimátní příčiny jsou vysvětlovány evolučními teoriemi. Patří mezi ně například Fisherova hypotéza (Fisher, 1930), která předpokládá, že rodiče směřují v produkci potomků k evolučně ideálnímu poměru 1:1. Vychází z předpokladu, že potomci obou pohlaví vyžadují stejnou míru vynaloženého úsilí od rodičů a tedy není třeba jedno pohlaví favorizovat. Kdyby se poměr pohlaví potomků odchýlil od poměru 1:1, začnou být upřednostňováni ti jedinci, kteří produkují „vzácnější“ pohlaví. Další z ultimátních příčin je Trivers-Wilardova hypotéza (Trivers & Wilard, 1973). Tato hypotéza závisí na zdravotním stavu a kondici samice. Pokud je samice zdravá a silná – v „dobré kondici“, je pro ni výhodnější investovat své síly, energii a prostředky do samců. Oproti tomu, pokud je samice slabá, nemá ideální podmínky na výchovu potomka, je pro ni výhodnější plodit samice. Ty se totiž rozmnoží mnohem pravděpodobněji než samci, i když budou slabší. Evolučně úspěšnější pak bude ta samice, která přizpůsobí poměr pohlaví svých potomků své kondici. Mezi ultimátní příčiny dále patří například hypotéza atraktivity (Burely, 1981), hypotéza výhody dcer (Altmann & Altmann., 1988), či hypotéza lokální soutěže o zdroje (Clark, 1978) a mnoho dalších. Tyto hypotézy zde již nebudou rozvedeny, neboť nesouvisí s náplní této práce.

Proximátní příčiny změn sekundárního poměru pohlaví jsou fyziologické a lze je rozdělit do dvou hlavních skupin podle doby působení: před oplozením a po oplození (dále ještě děleno před implantací a po implantaci). Patří sem například vliv různé pohyblivosti spermií a jejich úspěšnost při početí (Schwinger & kol., 1979), vliv vaginálního pH (Gutiérrez-Adán & kol., 2001), vliv různých hormonů (Sas & Szollosi, 1980), vliv hladin glukózy (Cameron & kol., 2008) také kouření (Beratis & kol., 2008), požívání alkoholu (Dickinson & Parker, 1994) a stres v těhotenství atd. Jednou z proximálních příčin změn poměru pohlaví může být také vliv mužských histokompatibilních antigenů a imunitních reakcí na ně.

6.2. Vliv H-Y antigenů na poměr pohlaví

Mužské histokompatibilní antigeny jsou jedním z proximálních faktorů vytvářející rozdíl mezi primárním a sekundárním pohlavním indexem. Což je samozřejmě v souladu s výsledky studií zaměřených na vliv H-Y antigenu na potraty (viz kapitola 5. Na základě těchto studií bylo tedy navrženo, že po předešlých těhotenstvích s plody mužského pohlaví může docházet častěji k potracení dalších potomků mužského pohlaví (např. Nielsen, 2011).

Již v roce 1962 (Renkonen & kol.) byl prováděn výzkum, který se zaměřoval na rodiny s alespoň čtyřmi dětmi a sledoval poměr pohlaví mezi sourozenci v těchto rodinách. Bylo zjištěno, že všechna matčina těhotenství s mužskými zárodky snižují pravděpodobnost narození dalšího syna a tedy se i posouvá poměr pohlaví směrem k dívkám. Příčinou je pravděpodobně imunitní reakce na H-Y antigeny. K podobnému závěru došli ve své studii Hoppe & Koo (1983), kteří chtěli potvrdit, že imunitní odpověď matky na mužské histokompatibilní antigeny může ovlivnit poměr pohlaví ve prospěch žen tím, že negativně reaguje na mužské zárodky a způsobuje jejich potraty. Jejich výzkum, při kterém byly myší spermie upraveny protilátkami na tyto antigeny, ovšem neukázal významný rozdíl v poměru pohlaví potomků myší oplodněnými takto upravenými spermii, oproti kontrolní skupině. O rok později se vliv mužských histokompatibilních antigenů podařilo potvrdit Gaultierovi & kol. (1984). Ti potvrdili hypotézu, že H-Y antigeny, které se matce dostanou do těla během těhotenství se synem, mají vliv na poměr pohlaví dalších dětí, konkrétně čím více má matka synů, tím spíše bude její dalším dítětem dcera. Pechan (1985) dokonce spočítal, že přítomnost těchto antigenů snižuje množství narozených mužů (resp. myších samců, na kterých dělal pokusy) o 10 %, což hýbe i s hodnotami poměru pohlaví.

Výsledky studií zaměřených na vliv potratů na sekundární poměr pohlaví ovšem nejsou jednotné. V roce 2014 Li & kol. publikovali studii zaměřenou na poměr pohlaví u dětí narozených po sérii sekundárních opakovaných potratů. Tato studie byla prováděna retrospektivně z lékařských záznamů z let 1992 – 2010. Ukázalo se, že poměr pohlaví prvního potomka narozeného po sérii abortů je v případě sekundárně opakovaných potratů 81:77 ve prospěch mužů. Tedy se ukázalo, že sekundární poměr pohlaví se u dětí narozených po sekundárních opakovaných potratech neliší od průměrného sekundárního poměru pohlaví 105:100. Autoři tento výsledek připisují malému vzorku zkoumaných a předkládají proti svým výsledkům, výsledky rozsáhlejší studie (Nielson & kol., 2010), ve které se poměr pohlaví shodoval s předpokladem, že bude vychýlený ve prospěch chlapců – 203:136.

Pokud by předešlé potraty opravdu ovlivňovaly sekundární poměr pohlaví lze předpokládat, že by se měl výrazně lišit poměr pohlaví u prvorodiček a vícerodiček – prvorodičky by měly mít více synů. Gurung & kol. (2018) provedli retrospektivní výzkum, při kterém prozkoumali 1625 lékařských záznamů žen, rodičích ve stejný rok. Tyto ženy dohromady porodily 845 chlapců a 780 dívek. Skupina se skládala, jak z prvorodiček, tak z vícerodiček. Studie odhalila překvapující výsledek. Navzdory předpokladu, že prvorodičky mají více synů, byla u nich pozorována vyšší míra porodnosti dcer, než u vícerodiček. Naopak

vícerodičky paradoxně více synů. Do této studie nebyly započítány žádné vedlejší vlivy (věk rodičů, demografický faktor, náboženství atd.), ani příčiny potratů a smrti plodu. Autoři navrhuji tuto problematiku dále zkoumat.

Souvislost mezi H-Y antigenem a poměrem pohlaví byla také diskutována v studii zaměřené na vliv latentní toxoplazmózy na sekundární poměr pohlaví (Kaňková & kol., 2007) a v následně publikovaném přehledovém článku na stejné téma (Flegr & Kaňková, 2020). Autoři (Kaňková & kol., 2007) zjistili, že ženy s latentní toxoplazmózou rodí častěji děti mužského pohlaví. Nejvyšší poměr pohlaví byl pozorován u žen, kterým byly naměřeny vyšší titry protilátek proti *Toxoplasma gondii*. Tento poměr pohlaví se blížil primárnímu poměru pohlaví, které bylo zjištěno například ve studii Kellokumpu-Lehtinen a spol. (1984). Bylo navrženo, že imunosuprese či imunomodulace spojená s toxoplazmózou by mohla být zodpovědná za přežívání více mužských embryí, která by za normálních okolností byla potracena díky imunitní reakci matky na H-Y antigeny.

7. Vliv H-Y antigenu na homosexualitu u mužů

Homosexuální orientace je sexuální, emocionální a/nebo romantická přitažlivost k jedincům stejného pohlaví (American Psychological Association, 2008). Z evolučního hlediska se jeví jako velmi nevýhodná životní strategie. Označuje se jako tzv. Darwinovský paradox, protože, jako reprodukčně neaktivní strategie, by měla vlivem selekce postupně vymizet, což se neděje (Camperio-Ciani & kol., 2004). V živočišné říši není nijak neobvyklá. Mnoho druhů zvířat, jako například tučňáci, albatrosi, delfíni, či šimpanzi, vytváří stejnopohlavní partnerství za účelem společné péče o potomky, na obranu obývaného místa, nebo pro své lepší postavení v hierarchii společenstva. V těchto případech ovšem nejde o homosexuální orientaci jako takovou, ale o homosexuální chování, prováděné za účelem získání si výhod pro přežití i zachování genetické informace (Savolainen & Hodgson, 2016; Monk & kol., 2019). Podobně by tomu mohlo být i u lidí, ovšem u nich se názory na zachovávání homosexuality v evoluci různí (Bartáková & Valentová, 2015).

Existuje mnoho hypotéz, proč homosexualita, v tomto případě konkrétně mužská, v průběhu času přetrvává. Jedou z nich je například hypotéza sexuálně antagonistické selekce. Obecně se jedná o selekci, kdy se snižuje inkluzivní fitness jednoho pohlaví (mužského) ve prospěch druhého. Touto hypotézou bylo navrženo, že alely, které homosexualitu podmiňují se vyskytují i u heterosexuálních žen, které mají díky nim reprodukční výhodu (jsou atraktivnější, nemívají problémy s početím) (Camperio-Ciani & kol., 2008). Ženské příbuzné homosexuálů

(speciálně matky, babičky) by tedy mohly touto výhodou kompenzovat reprodukční neaktivitu svých homosexuálních příbuzných. Pokud by zvýšená porodnost příbuzných žen homosexuálů byla dostatečně vysoká, aby vynahradila nereproduktivitu jejich mužských homosexuálních příbuzných, alela zapříčiňující tento stav by se v populaci udržovala se zachovávající genetickou informací daného rodu. Nešlo by tedy o nijak nevýhodnou strategii. Tato hypotéza byla opakovaně testována, ale pro její podporu jsou v současné době nejednoznačné výsledky. Některé studie (Camperio-Ciani & kol., 2004; Camperio-Ciani & kol., 2008; Iemmola & Camperio-Ciani, 2008; Camperio-Ciani & kol., 2009; Semenyna & kol., 2017) prokázaly vyšší porodnost u matek, nebo babiček (případně sester) homosexuálních mužů, než u matek a babiček mužů heterosexuálních. Tím hypotézu sexuálně antagonistické selekce podporují. Jiné studie (King & kol., 2005; Rahman & kol., 2008) včetně recentní metaanalýzy (Blanchard & kol., 2020) neprokázaly rozdíl u porodnosti mezi ženskými příbuznými homosexuálních a heterosexuálních mužů. Rahmanova studie z roku 2008 sice prokázala zvýšenou porodnost v rodinách homosexuálních bílých mužů, ovšem u všech ostatních ras byla touto studií odhalena vyšší porodnost v rodinách mužů heterosexuálních.

Jiné evoluční teorie mužské homosexuality vychází z toho, že homosexualita by se mohla v populaci udržovat prostřednictvím příbuzenského altruismu (Wilson, 1978) nebo přímo rodičovskou manipulací, kterou lze považovat za specifickou formu příbuzenského výběru. V případě většího množství potomků je potřeba dělit mezi ně zdroje a péči. Jakmile je jeden ze synů homosexuál, vlastní potomky nemá, může pomoci svým rodičům s péčí o sourozence, či sourozencům s péčí o jejich potomky. S touto hypotézou přišel jako první Trivers (1974) a pracují s ní i recentní studie (Roughgarden, 2017; Ginkel, 2021).

Vliv na mužskou homosexualitu nemusí mít pouze rodiče. Existuje propojení mezi homosexualitou u mužů a počtem jejich starších bratrů (Blanchard, 2001). Příkladem je hypotéza mateřské imunosenzitivity, která se zaměřuje na vliv právě mužských histokompatibilních antigenů na mužskou homosexualitu (Blanchard & Klassen, 1997). Autoři studie navrhuje, že ženské tělo si „pamatuje“ kolik mužských plodů již v sobě mělo. Důvodem jsou pravděpodobně právě mužské histokompatibilní antigeny, které plody mužského pohlaví matkám předávají přes placentu (viz kapitola 2.2). Jelikož plody ženského pohlaví tyto antigeny, ani jiné látky, na které by reagoval mateřský imunitní systém, do těla matky netransportují, k jejich „zapamatování“ nedochází. Autoři navrhuje, že při dalším těhotenství, opět s mužským plodem, mohou již vytvořené protilátky proti H-Y antigenu ovlivnit skrz hematoencefalickou bariéru (bariéra, která odděluje mozkovou tkáň od mozkových cév

a reguluje látky, které se z krve k mozku dostanou), která v té době ještě není zcela vyvinuta, část mozku odpovědnou právě za sexuální orientaci.

Hypotézu, že vliv H-Y antigenu je zapojen do utváření sexuální orientace u mužů podporují i další studie. Již zmíněná studie z roku 2001 (Blanchard) ukazuje, že zvyšování pravděpodobnosti homosexuality u mužů by mohla být přímo úměrná zvyšujícímu se počtu starších bratrů daného muže. U mužů, kteří nemají žádného staršího bratra, je pravděpodobnost homosexuální orientace 2 %. S každým dalším bratrem se tato pravděpodobnost zvyšuje. U mužů se čtyřmi staršími bratry už je to 6 %. Naopak nebyl objeven žádný vliv přítomnosti starších sester, ani jejich počtu, na homosexualitu u mladších bratrů. Také nebyl prokázán jakýkoli vliv starších sourozenců (ať už bratrů, nebo sester) na sexuální orientaci u žen.

Aby byl objasněn princip ovlivnění mužské homosexuální orientace v souvislosti s počtem starších bratrů Bogaert a Skorska v roce 2011 ověřili hypotézu mateřské imunizace. V ní pokládají otázku, jak je možné, že H-Y antigeny ovlivní sexuální orientaci změnou v mozku, ale neovlivní jiné mozkové funkce. Byl navržen vliv několika proteinů, konkrétně proteinů kódovaných geny PCDH11Y, NLGN4Y, TBL1Y a SMCY.

Odpovědi alespoň částečně přinesla až recentní studie, zkoumající dva proteiny, které jsou vázány na chromosom Y (Bogaert & kol., 2018). Prvním proteinem byl PCDH11Y (protocadherin 11), který hraje roli při vytváření centrální nervové soustavy a má svůj homolog i na X chromosomu (PCDH11X) (Wilson & kol., 2006). Druhým byl protein NLGN4Y (neuroligin 4), který se podílí na vytváření nervových synapsí, a i ten má homolog na chromosomu X (NLGN4X) (Johansson & kol., 2016). Oba proteiny se podílí na vývoji mozku a centrální nervové soustavy. Výzkum byl zaměřen na jejich vztah k mužské homosexualitě a souvislost s počtem starších bratrů. Dané studie se účastnilo 54 matek, které měly syny homosexuály, z nichž 23 mělo staršího heterosexuálního syna. Dále byla použita kontrolní skupina čítající 72 matek heterosexuálních synů. Studie ukázala, že protein NLGN4Y by mohl být při vývoji mozku mužského plodu ovlivněn mateřským imunitním systémem. Tento protein je totiž potenciálně přístupný k ovlivnění mateřskými protilátkami, které se s jeho pomocí stanou součástí pro muže specifických molekul na buněčných površích v příslušné části mozku. V důsledku toho se povrch daných buněk pozmění. Do té doby specificky maskulinní uspořádání se následkem toho přeskupí. Tím může dojít k formování sexuální orientace směrem k homosexualitě a později postnatálně také k jisté feminizaci daného muže. S tím, že tento protein opravdu souvisí s mužskou homosexualitou a změna jeho fungování je podmíněna počtem starších bratrů homosexuálních jedinců se shoduje i fakt, že nejnižší hladinu proteinu

měly matky mající pouze heterosexuální syny, poté ty s homosexuálními syny bez staršího syna heterosexuála a úplně nejvyšší hladinu tohoto proteinu měly matky, jejichž starší syn (nebo synové) byl heterosexuál a mladší homosexuál. Zajímavým zjištěním bylo, že protilátky proti NLGN4Y vykazovaly i ženy, které žádného syna nikdy neměly, ani nebylo známo, že by byly v minulosti těhotné s mužským plodem. Studie tento jev vysvětluje možností přenosu z potracených plodů, o kterých žena nevěděla, nebo dokonce získáním těchto protilátek po kontaktu s mužským biologickým materiálem, například spermatem při pohlavním styku. Zdá se, že podobný mechanismus by mohl hrát roli také při vzniku poruch autistického spektra (Dean & Dresbach, 2006) (viz kapitola 8.1).

Blanchard & kol. (2002) také zjistili, že novorození chlapci se staršími bratry, ze kterých dospěli homosexuálně orientovaní muži, měli nižší porodní hmotnost než novorozenci se staršími bratry, ze kterých dospěli heterosexuální muži. Úbytek porodní váhy druhorozených a vícerozených synů by ale mohl souviset spíše, stejně jako homosexualita u mužů, s imunitní reakcí na H-Y antigeny a ne nutně s homosexualitou samotnou (Moffet & kol, 2015).

8. Další jevy ovlivněné působením HY-antigenů v těhotenství a při porodu

Nepřiměřená imunitní reakce na rozpoznání mužských histokompatibilních antigenů nemusí nutně zapříčinit potracení plodu. Při čekání druhorozených dětí, v případech, kdy je prvorozeným chlapec, se mohou v souvislosti s netypickou mateřskou imunitní odpovědí vyskytnout různé komplikace. Ve skandinávských zemích byla provedena rozsáhlá studie (Mortensen & kol., 2020) zahrnující lékařská data více než dvou milionů respondentů, které tvořili druhorození potomci. Studie ukazuje, že předešlé těhotenství s mužským plodem, tedy působení HY-antigenů, může mít vliv na zvýšení pravděpodobnosti narození mrtvého dítěte, předčasného porodu, preeklampsii, nebo odtržení placenty. U matek již narozených synů je pravděpodobnost narození mrtvého dítěte o 9 % vyšší než u matek již narozených dcer. Pravděpodobnost předčasného porodu je vyšší o 8 %, riziko, že dojde k odtržení placenty o 4 % a možnost rozvinutí preeklampsie o 4 %.

Další faktor, který se zdá být ovlivněn dříve narozeným synem, je porodní váha druhorozeného potomka. Bylo zjištěno, že druhorození synové, kteří mají staršího bratra, mají v průměru nižší porodní váhu, než ti mající starší sestru (Côté & kol., 2003). V případě dívek souvislost mezi jejich porodní váhou a pohlavím staršího sourozence prokázána nebyla. Pozdější studie (Nielsen & kol., 2007) ovšem prokázala, že starší bratři mají vliv nejen na

porodní váhu mladších bratrů, ale i mladších sester. Pozorovaný váhový úbytek byl až o 38 g u druhorozených chlapů a až o 21 g u prvorozených dívek. Úbytek porodní váhy u druhorozeného potomka se starším bratrem je přisuzován opět reakci na HY-antigeny a působení HLA alel II. třídy.

8.1. Vliv H-Y antigenu na poruchy autistického spektra

Dalším z řady účinků mužských histokompatibilních antigenů, by mohla být účast při spouštění poruch autistického spektra. To jsou poruchy nervového systému, které se projevují hlavně problémy při komunikaci a sociální interakci (Boucher, 2008). Tyto poruchy mají několik rizikových faktorů. Mezi ně patří například věk rodičů, či pořadí narození jedince mezi sourozenci (Alvarez & kol., 2020). Podle studie z roku 1997 (Gent & kol.) by mohl rozvoj poruch autistického spektra souviset s imunitní reakcí matky na plod v těhotenství, kterou způsobují pro mateřský organismus cizorodé buňky a pokud se jedná o mužský plod, zapojuje se i imunitní reakce na H-Y antigeny.

Je zajímavé, že autistické poruchy se objevují častěji u mužů než u žen, a to v poměru 4:1 (Fombone, 2003). Studie z roku 2003 (Rubenstein & Merzenich) prokázala souvislost mezi poměrem excitace a inhibice neuronových synapsí a vývojem autistických poruch. Při dalším výzkumu (Laumonnier & kol., 2004) se ukázalo, že mutace v genu NLGN4, který se podílí na spojování a kontaktu mezi buněčnými povrchy, souvisí s vývojem poruch autistického spektra. Bylo zjištěno, že pokud mozek plodu trpí nedostatkem proteinu kódovaným genem NLGN4, může docházet k abnormálnímu vývoji synapsí, což ovlivňuje například kognitivní funkce člověka.. Tento gen se však nepodílí pouze na vytváření poruch autistického spektra, ale bylo zjištěno, že figuruje také při modulaci mužské homosexuální orientace (viz kapitola 7), v obou případech (poruchy autistického spektra i mužská homosexualita) se jeví jako rizikový faktor přítomnost, případně i počet starších bratrů (Johansson & kol., 2016).

Recentní studie (Alvares & kol., 2020) předkládá výsledky, které říkají, že riziko vyvinutí poruchy autistického spektra opravdu může souviset s pořadím narození. Dle této studie jsou nejohroženější skupinou druhorození potomci, nepracuje ovšem s rozdílem mezi chlapci a dívkami. Autoři se domnívají, že by příčinou mohla být větší náchylnost matky k infekcím v souvislosti s větší mírou stresu, při starání se o prvorozené dítě a dále nepřiměřená imunitní odpověď matky na plod. Studie také potvrzuje, že muži jsou mnohem náchylnější k rozvinutí poruch autistického spektra než ženy. Poruchy autistického spektra tedy alespoň

částečně pravděpodobně souvisí s působením H-Y antigenů, ovšem studií na toto téma není mnoho a výzkumy této problematiky stále pokračují.

9. Závěr

H-Y antigeny se vyskytují ve všech mužských buňkách a jsou kódovány geny lokalizovanými na Y chromosomu. V mužském těle jsou neškodné, ovšem dostanou-li se do těla ženského, mohou způsobit různé problémy.

Do ženského těla se tyto antigeny mohou dostat například při transplantacích od mužského dárce, či v těhotenství s mužským zárodkem průchodem přes placentu. Poté mohou v ženském organismu setrvávat až několik desetiletí a působit na další plody, s nimiž je žena gravidní, zvláště pokud je zárodek opět mužský. Jejich vlivem může dojít k předčasnému porodu a jak při něm, tak při případném porodu v termínu, může mít dítě podprůměrnou porodní váhu (Nielsen & kol., 2007). Opakovaně bylo prokázáno, že mají vliv na sekundární opakované potraty (Nielsen & kol., 2008; Nielsen & kol., 2009; Shapira & kol., 2012). Tyto poznatky by mohly vést k zlepšení léčebných možností pro páry, které opakovanými potraty trpí.

Dále byla navržena souvislost mezi mužskými histokompatibilními antigeny a výskytem poruch autistického spektra. Toto téma je poměrně nové a otevírá mnoho možností pro budoucí výzkum v této oblasti.

H-Y antigeny jsou také jedním z faktorů ovlivňující mužskou homosexualitu (Blanchart & Klassen, 1997). V dnešním světě by tento poznatek mohl pomoci k pochopení této menšinové sexuální orientace. Jestli totiž je mužská homosexualita alespoň z části podmíněna H-Y antigenem, a studie prokazují, že pravděpodobně ano (Blanchart, 2001), mohlo by to změnit pohled na homosexualitu ve společnosti. Různá sexuální orientace by mohla začít být vnímána jako něco přirozeného, co sice není tak časté, ale dané již v průběhu prenatálního vývoje, jako například zrzavá barva vlasů, nebo heterochromie (rozdílná barva duhovek u jednoho člověka).

Jak v případě poruch autistického spektra, tak u modulace mužské sexuální orientace hrají H-Y antigeny roli při vývoji mozku a nervové soustavy v průběhu prenatálního vývoje. Nabízí se otázka, co dalšího by mohly ovlivnit. Rozhodně jsou stále předmětem výzkumů. Jejich poznání by mohlo lidskou populaci přiblížit k řešení lékařských, biologických i společenských problémů.

Seznam použité literatury

- Agulnik, A. I., Mitchell, M. J., Lerner, J.L., Woods D. R., & Bishop, C. E. (1994). A mouse Y chromosome gene encoded by a region for spermatogenesis and expression of male-specific minor histocompatibility antigens. *Human Molecular Genetics*, 3(6), 873-878.
- Altmann, M., & Altmann, J. (1991). Models of Status-Related Bias in Offspring Sex Ratio. *The American Naturalist*, 137(4), 542–555.
- Alvares, G. A., Licari, M. K., Stevenson, P. G., Bebbington, K., Cooper, M. N., Glasson, E. J., Tan, D. W., Uljarević, M., Varcin, K. J., Wray, J., & Whitehouse, A. J. O. (2020). Investigating associations between birth order and autism diagnostic phenotypes. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*. <https://doi.org/10.1111/jcpp.13349>
- Ander, S. E., Diamond, M. S., & Coyne, C. B. (2019). Immune responses at the maternal-fetal interface. *Science Immunology*, 4(31).
- Bártová, K., & Valentova, J. V. (2015). Homosexualita a homosocialita z evoluční perspektivy. *Vesmír*, 94, 360–361.
- Beratis, N. G., Asimacopoulou, A., & Varvarigou, A. (2008). Association of secondary sex ratio with smoking and parity. *Fertility and Sterility*, 89(3), 662–667.
- Bianchi, D. W., Zickwolf, G. K., Weil, G. J., Sylvester, S., & DeMaria, M. A. (1996). Male fetal progenitor cells persist in maternal blood for as long as 27 years postpartum. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 93(2), 705-708.
- Billingham, R. E., & Silvers, W. K. (1960). Studies on Tolerance of the Y Chromosome Antigen in Mice. *The Journal of Immunology*, 85(1), 14-26.
- Blanchard, R. (2001). Fraternal Birth Order and the Maternal Immune Hypothesis of Male Homosexuality. *Hormones and Behavior*, 40(2), 105–114.
- Blanchard, R., Krupp, J., VanderLaan, D. P., Vasey, P. L., & Zucker, K. J. (2020). A method yielding comparable estimates of the fraternal birth order and female fecundity effects in male homosexuality. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 287(1923), 20192907.
- Blanchard, R. (2018). Fraternal Birth Order, Family Size, and Male Homosexuality: Meta-Analysis of Studies Spanning 25 Years. *Archives of Sexual Behavior*, 47(1), 1–15.

- Blanchard, R., Klassen, P. (1997). H-Y Antigen and Homosexuality in Men. *Journal of Theoretical Biology*, 185(3), 373–378.
- Blanchard, R., Zucker, K. J., Cavacas, A., Allin, S., Bradley, S. J., & Schachter, D. C. (2002). Fraternal Birth Order and Birth Weight in Probably Prehomosexual Feminine Boys. *Hormones and Behavior*, 41(3), 321–327.
- Bogaert, A. F., & Skorska, M. (2011). Sexual orientation, fraternal birth order, and the maternal immune hypothesis: A review. *Frontiers in Neuroendocrinology*, 32(2), 247–254.
- Bogaert, A. F., Skorska, M. N., Wang, C., Gabriele, J., MacNeil, A. J., Hoffarth, M. R., VanderLaan, D. P., Zucker, K. J., & Blanchard, R. (2018). Male homosexuality and maternal immune responsivity to the Y-linked protein NLGN4Y. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(2), 302–306.
- Boucher, J. (2008). The autistic spectrum: Characteristics, causes and practical issues. *Sage*.
- Bouteiller, P. L., Rodriguez, A. M., Mallet, V., Girr, M., Guillaudeux, T., & Lenfant, F. (1996). Placental Expression of HLA Class I Genes. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35(3), 216-225.
- Burley, N. (1981). Sex Ratio Manipulation and Selection for Attractiveness. *Science*, 211(4483), 721–722.
- Cameron, E. Z., Lemons, P. R., Bateman, P. W., & Bennett, N. C. (2008). Experimental alteration of litter sex ratios in a mammal. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences*, 275(1632), 323–327.
- Camperio-Ciani, A., Corna, F., & Capiluppi, C. (2004). Evidence for maternally inherited factors favouring male homosexuality and promoting female fecundity. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 271(1554), 2217–2221.
- Carrillo-Mora, P., García-Franco, A., Soto-Lara, M., Rodríguez-Vásquez, G., Pérez Villalobos, J., & Martínez-Torres, D. (2021). Physiological Changes During a Normal Pregnancy. *Revista de la Facultad de medicina UNAM*, 64(1), 39-48.
- Ciani, A. C., Cermelli, P., & Zanzotto, G. (2008). Sexually Antagonistic Selection in Human Male Homosexuality. *PLOS ONE*, 3(6), e2282.

- Ciani, A. C., Iemmola, F., & Blecher, S. R. (2009). Genetic Factors Increase Fecundity in Female Maternal Relatives of Bisexual Men as in Homosexuals. *The Journal of Sexual Medicine*, 6(2), 449–455.
- Clark, A. B. (1978). Sex Ratio and Local Resource Competition in a Prosimian Primate. *Science*, 201(4351), 163–165.
- Collins, M. K., Tay, C.-S., & Erlebacher, A. (2009). Dendritic cell ebtapment within the pregnant uterus inhibits immune surveillance of the maternal/fetal interface in mice. *The Journal of Clinical Investigation*, 119(7), 2062-2073.
- Collins, J., & Hohn, B. (1978). Cosmids: A type of plasmid gene-cloning vector that is packageable in vitro in bacteriophage lambda heads. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 75(9), 4242-4246.
- Côté, K., Blanchard, R., & Lalumière, M. L. (2003). The influence of birth order on birth weight: Does the sex of preceding siblings matter? *Journal of Biosocial Science*, 35(3), 455–462.
- Dean, C., & Dresbach, T. (2006). Neuroligins and neuexins: Linking cell adhesion, synapse formation and cognitive function. *Trends in Neurosciences*, 29(1), 21–29.
- Desai, R. C., & Creger, W.P. (1963). Maternofetal Passage of Leukocytes and Platelets in Man. *Blood*, 21(6), 665-673.
- Dickinson, H., & Parker, L. (1994). Do Alcohol and Lead Change the Sex Ratio? *Journal of Theoretical Biology*, 169(3), 313–315.
- Dierselhuis, M., & Goulmy, E. (2009). The relevance of minor histocompatibility antigens in solid organ transplantation. *Current Opinion in Organ Transplantation*, 14(4), 419–425.
- Eichwald, E. J., & Silmsen, C. R. (1955). Untitled communication. *Transplant Bull*, 2(14), 149.
- Fisher, I. (1930). *Theory of interest: as determined by impatience to spend income and opportunity to invest it*. Augustusm Kelly Publishers, Clifton.
- Flegr, J., & Kaňková, Š. (2020). The effects of toxoplasmosis on sex ratio at birth. *Early Human Development*, 141, 104874.

- Fombonne, E. (2003). Epidemiological Surveys of Autism and Other Pervasive Developmental Disorders: An Update. *Journal of Autism and Developmental Disorders*, 33(4), 365–382.
- Fu, B., Zhou, Y., Ni, X., Tong, X., Xu, X., Dong, Z., Sun, R., Tian, Z., & Wei, H. (2017). Natural Killer Cells Promote Fetal Development through the Secretion of Growth-Promoting Factors. *Immunity*, 47(6), 1100-1113.e6
- Gent, T. van, Heijnen, C. J., & Treffers, P. D. A. (1997). Autism and the Immune System. *Journal of Child Psychology and Psychiatry*, 38(3), 337–349.
- Gammill, H. S., Stephenson, M. D., Aydelotte, T. M., & Lee Nelson, J. (2014). Microchimerism in recurrent miscarriage. *Cellular & Molecular Immunology*, 11(6), 589–594.
- Garrido-Gimenez, C., & Alijotas-Reig, J. (2015). Recurrent miscarriage: Causes, evaluation and management. *Postgraduate Medical Journal*, 91(1073), 151–162.
- Ginkel, M. van. (2021). Evolution of Homosexuality in the Human Male: Improved Mixed-Team Performance Hypothesis. OSF Preprints.
- Iemmola, F., & Camperio Ciani, A. (2009). New Evidence of Genetic Factors Influencing Sexual Orientation in Men: Female Fecundity Increase in the Maternal Line. *Archives of Sexual Behavior*, 38(3), 393–399.
- Goulmy, E. (1988). 3—Minor histocompatibility antigens in man and their role in transplantation. *Transplantation Reviews*, 2, 29–53.
- Gualtieri, T. C., Hicks, R. E., & Mayo, J. P. (1984). Influence of sex of antecedent siblings on the human sex ratio. *Life Sciences*, 34(19), 1791–1794.
- Gurung, T. K., Gurung, R. T., Shrestha, R., & Shrestha, R. (2018). Sex Ratio at Birth: Where Did Our Female Fetus Go? *Journal of Gandaki Medical College-Nepal*, 11(1), 1–4.
- Gutiérrez-Adán, A., Pérez-Garnelo, Granados, J., Garde, J. J., Pérez-Guzmán, M., Pintado, B., & Fuente, J. D. L. (1999). Relationship between sex ratio and time of insemination according to both time of ovulation and maturational state of oocyte. *Zygote*, 7(1), 37–43.
- Haig, D. (2014). Interbirth intervals: Intrafamilial, intragenomic and intrasomatic conflict. *Evolution, Medicine, and Public Health*, 2014(1), 12–17.

Hoppe, P. C., & Koo, G. C. (1984). Reacting mouse sperm with monoclonal H-Y antibodies does not influence sex ratio of eggs fertilized in vitro. *Journal of Reproductive Immunology*, 6(1), 1–9.

Hořejší, V., Bartůňková, J., & Brdička, T. (2009). *Základy imunologie*. 4. vydání. Praha: Triton, 279.

Hu, X., Kueppers, S. T., Kooreman, N. G., Gravina, A., Wang, D., Tediashvili, G., Schlickeiser, S., Frentsch, M., Nikolaou, C., Thiel, A., Marcus, S., Fuchs, S., Velden, J., Reichensperner, H., Volk, H.-D., Deuse, T., & Schrepfer, S. (2020). The H-Y Antigen in Embryonic Stem Cells Causes Rejection in Syngeneic Female Recipients. *Stem Cells and Development*, 29(18), 1179–1189.

Hunt, J. S. (1994). Immunologically Relevant Cells in the Uterus¹. *Biology of Reproduction*, 50(3), 461–466.

Hunter, J. (1779). XX. Account of the free martin. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London*, (69), 279–293.

Hutton, B., Sharma, R., Fergusson, D., Tinmouth, A., Hebert, P., Jamieson, J., & Walker, M. (2007). Use of intravenous immunoglobulin for treatment of recurrent miscarriage: A systematic review. *BJOG: An International Journal of Obstetrics & Gynaecology*, 114(2), 134–142.

Chapel, H., Haeney, M., Misbah, S., & Snowden, N. (2013). *Essentials of Clinical Immunology*, John Wiley & Sons.

Christiansen, O. (1996). A fresh look at the causes and treatments of recurrent miscarriage, especially its immunological aspects. *Human Reproduction Update*, 2(4), 271–293.

Christiansen, O. B., Pedersen, B., Nielsen, H. S., & Nybo Andersen, A.-M. (2004). Impact of the sex of first child on the prognosis in secondary recurrent miscarriage. *Human Reproduction*, 19(12), 2946–2951.

Jacobsen, R., Møller, H., & Mouritsen, A. (1999). Natural variation in the human sex ratio. *Human Reproduction*, 14(12), 3120–3125.

- Johansson, M. M., Lundin, E., Qian, X., Mirzazadeh, M., Halvardson, J., Darj, E., Feuk, L., Nilsson, M., & Jazin, E. (2016). Spatial sexual dimorphism of X and Y homolog gene expression in the human central nervous system during early male development. *Biology of Sex Differences*, 7(1), 5.
- Jost, A. (1947). Recherches sur la differenciation sexuelle de l'embryon de lapin. *Arch. Anat. Microsc. Morphol Exp*, 36, 271-315.
- Kahn, D. A., & Baltimore, D. (2010). Pregnancy induces a fetal antigen-specific maternal T regulatory cell response that contributes to tolerance. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 107(20), 9299–9304.
- Kaňková, Š., Šulc, J., Nouzová, K., Fajfrlík, K., Frynta, D., & Flegr, J. (2007). Women infected with parasite *Toxoplasma* have more sons. *Naturwissenschaften*, 94(2), 122–127.
- Kamimura, S., Eguchi, K., Yonezawa, M., & Sekiba, K. (1991). Localization and developmental change of indoleamine 2,3-dioxygenase activity in the human placenta. *Acta Medica Okayama*, 45(3), 135–139.
- Kellokumpu-Lehtinen, P., & Pelliniemi, L. J. (1984). Sex ratio of human conceptuses. *Obstetrics and Gynecology*, 64(2), 220–222.
- King, A., Jokhi, P. P., Burrows, T. D., Gardner, L., Sharkey, A. M., & Lore, Y. W. (1996). Functions of Human Decidual NK Cells. *American Journal of Reproductive Immunology*, 35(3), 258–260.
- King, M., Green, J., Osborn, D. P. J., Arkell, J., Hetherton, J., & Pereira, E. (2005). Family Size in White Gay and Heterosexual Men. *Archives of Sexual Behavior*, 34(1), 117–122.
- Kolte, A. M., Steffensen, R., Christiansen, O. B., & Nielsen, H. S. (2016). Maternal HLA-restricting HLA class II alleles are associated with poor long-term outcome in recurrent pregnancy loss after a boy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 76(5), 400–405.
- Kumpel, B. M., & Manoussaka, M. S. (2012). Placental immunology and maternal alloimmune responses. *Vox Sanguinis*, 102(1), 2–12.

- Laumonnier, F., Bonnet-Brilhault, F., Gomot, M., Blanc, R., David, A., Moizard, M.-P., Raynaud, M., Ronce, N., Lemonnier, E., Calvas, P., Laudier, B., Chelly, J., Fryns, J.-P., Ropers, H.-H., Hamel, B. C. J., Andres, C., Barthélémy, C., Moraine, C., & Briault, S. (2004). X-Linked Mental Retardation and Autism Are Associated with a Mutation in the NLGN4 Gene, a Member of the Neuroligin Family. *The American Journal of Human Genetics*, 74(3), 552–557.
- Li, X. C., & Jevnikar, A. M. (2015). Transplant Immunology. *John Wiley & Sons*.
- Li, J., Liu, L., Liu, B., Saravelos, S., & Li, T. (2014). Recurrent miscarriage and birth sex ratio. *European Journal of Obstetrics & Gynecology and Reproductive Biology*, 176, 55–59.
- Luppi, P. (2003). How immune mechanisms are affected by pregnancy. *Vaccine*, 21(24), 3352–3357.
- McMillen, M. M. (1979). Differential mortality by sex in fetal and neonatal deaths. *Science*, 204(4388), 89–91.
- Medawar, P. B. (1953). Some immunological and endocrinological problems raised by the evolution of viviparity in vertebrates. *Symp Soc Exp Biol*, 7, 320–337.
- Miklos, D. B., Kim, H. T., Miller, K. H., Guo, L., Zorn, E., Lee, S. J., Hochberg, E. P., Wu, C. J., Alyea, E. P., Cutler, C., Ho, V., Soiffer, R. J., Antin, J. H., & Ritz, J. (2005). Antibody responses to H-Y minor histocompatibility antigens correlate with chronic graft-versus-host disease and disease remission. *Blood*, 105(7), 2973–2978.
- Moffett, A., Hiby, S. E., & Sharkey, A. M. (2015). The role of the maternal immune system in the regulation of human birthweight. *Philosophical Transactions of the Royal Society B: Biological Sciences*, 370(1663), 20140071.
- Monk, J. D., Giglio, E., Kamath, A., Lambert, M. R., & McDonough, C. E. (2019). An alternative hypothesis for the evolution of same-sex sexual behaviour in animals. *Nature Ecology & Evolution*, 3(12), 1622–1631.
- Mor, G., & Cardenas, I. (2010). REVIEW ARTICLE: The Immune System in Pregnancy: A Unique Complexity. *American Journal of Reproductive Immunology*, 63(6), 425–433.
- Munn, D. H., Zhou, M., Attwood, J. T., Bondarev, I., Conway, S. J., Marshall, B., Brown, C., & Mellor, A. L. (1998). Prevention of Allogeneic Fetal Rejection by Tryptophan Catabolism. *Science*, 281(5380), 1191–1193.

- Müller, U., Aschmoneit, I., Zenzen, M. T., & Wolf, U. (1978). Binding studies of H-Y antigen in rat tissues. *Human Genetics*, 43(2), 151–157.
- Müller, U., Wachtel, S. S., Jaswaney, V. L., & Goldberg, E. H. (1993). H-Y (SDM) antibody specifically binds Müllerian inhibiting substance. *Human Genetics*, 91(5), 514–515.
- Nielsen, H. S. (2011). Secondary recurrent miscarriage and H-Y immunity. *Human Reproduction Update*, 17(4), 558–574.
- Nielsen, H. S., Mortensen, L., Nygaard, U., Schnor, O., Christiansen, O. B., & Andersen, A.-M. N. (2008). Brothers and Reduction of the Birth Weight of Later-born Siblings. *American Journal of Epidemiology*, 167(4), 480–484.
- Nielsen, H. S., Steffensen, R., Varming, K., Van Halteren, A. G. S., Spierings, E., Ryder, L. P., Goulmy, E., & Christiansen, O. B. (2009). Association of HY-restricting HLA class II alleles with pregnancy outcome in patients with recurrent miscarriage subsequent to a firstborn boy. *Human Molecular Genetics*, 18(9), 1684–1691.
- Nielsen, H. S., Wu, F., Aghai, Z., Steffensen, R., van Halteren, A. G., Spierings, E., Christiansen, O. B., Miklos, D., & Goulmy, E. (2010). H-Y antibody titers are increased in unexplained secondary recurrent miscarriage patients and associated with low male: Female ratio in subsequent live births. *Human Reproduction*, 25(11), 2745–2752.
- Nørgaard-Pedersen, C., Kesmodel, U. S., & Christiansen, O. B. (2021). Women with Recurrent Pregnancy Loss More Often Have an Older Brother and a Previous Birth of a Boy: Is Male Microchimerism a Risk Factor? *Journal of Clinical Medicine*, 10(12), 2613.
- Ohno, S. (1977). The Original Function of MHC Antigens as the General Plasma Membrane Anchorage Site of Organogenesis-Directing Proteins. *Immunological Reviews*, 33(1), 59–69.
- Orzack, S. H., Stubblefield, J. W., Akmaev, V. R., Colls, P., Munné, S., Scholl, T., Steinsaltz, D., & Zuckerman, J. E. (2015). The human sex ratio from conception to birth. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 112(16), E2102–E2111.
- Pechan, P. (1985). Anti-male (anti-H-Y) male treatment influences progeny sex ratio. *Journal of Reproductive Immunology*, 7(4), 361–364.

- Peterson, L. S., Stelzer, I. A., Tsai, A. S., Ghaemi, M. S., Han, X., Ando, K., Winn, V. D., Martinez, N. R., Contrepois, K., Moufarrej, M. N., Quake, S., Relman, D. A., Snyder, M. P., Shaw, G. M., Stevenson, D. K., Wong, R. J., Arck, P., Angst, M. S., Aghaeepour, N., & Gaudilliere, B. (2020). Multiomic immune clockworks of pregnancy. *Seminars in Immunopathology*, 42(4), 397–412.
- Presland, R. B. (2016). Biology of chronic graft-vs-host disease: Immune mechanisms and progress in biomarker discovery. *World Journal of Transplantation*, 6(4), 608–619.
- Racicot, K., Kwon, J.-Y., Aldo, P., Silasi, M., & Mor, G. (2014). Understanding the Complexity of the Immune System during Pregnancy. *American Journal of Reproductive Immunology*, 72(2), 107–116.
- Rai, R., & Regan, L. (2006). Recurrent miscarriage. *The Lancet*, 368(9535), 601–611.
- Rahman, Q., Collins, A., Morrison, M., Orrells, J. C., Cadinouche, K., Greenfield, S., & Begum, S. (2008). Maternal Inheritance and Familial Fecundity Factors in Male Homosexuality. *Archives of Sexual Behavior*, 37(6), 962–969.
- Renkonen, K. O., Mäkelä, O., & Lehtovaara, R. (1962). Factors affecting the Human Sex Ratio. *Nature*, 194(4825), 308–309.
- Roughgarden, J. (2017). Chapter 30 - Homosexuality and Evolution: A Critical Appraisal**Because of its subject matter, the editors caution that some readers might find the language to be strong and the material to be graphic. In M. Tibayrenc & F. J. Ayala (Ed.), *On Human Nature* (s. 495–516). Academic Press.
- Rubenstein, J. L. R., & Merzenich, M. M. (2003). Model of autism: Increased ratio of excitation/inhibition in key neural systems. *Genes, Brain and Behavior*, 2(5), 255–267.
- Sas, M., & Szöllösi, J. (1980). Sex ratio of children of fathers with spermatic disorders following hormone therapy. *Orvosi Hetilap*, 121(46), 2807–2808.
- Savolainen, V., & Hodgson, J. A. (2016). Evolution of Homosexuality. In V. Weekes-Shackelford, T. K. Shackelford, & V. A. Weekes-Shackelford (Ed.), *Encyclopedia of Evolutionary Psychological Science* (s. 1–8). Springer International Publishing.
- Scott, D. M., Ehrmann, I. E., Ellis, P. S., Bishop, C. E., Agulnik, A. I., Simpson, E., & Mitchell, M. J. (1995). Identification of a mouse male-specific transplantation antigen, H-Y. *Nature*, 376(6542), 695–698.

- Semenyna, S. W., Petterson, L. J., VanderLaan, D. P., & Vasey, P. L. (2017). A Comparison of the Reproductive Output Among the Relatives of Samoan Androphilic Fa'afafine and Gynephilic Men. *Archives of Sexual Behavior*, 46(1), 87–93.
- Sharma, S., Godbole, G., & Modi, D. (2016). Decidual Control of Trophoblast Invasion. *American Journal of Reproductive Immunology*, 75(3), 341–350.
- Shapira, E., Ratzon, R., Shoham-Vardi, I., Serjienko, R., Mazor, M., & Bashiri, A. (2012). Primary vs. Secondary recurrent pregnancy loss – epidemiological characteristics, etiology, and next pregnancy outcome. *Journal of Perinatal Medicine*, 40(4), 389–396.
- Schwinger, E., Ites, J., & Korte, B. (1976). Studies on frequency of Y chromatin in human sperm. *Human Genetics*, 34(3), 265–270.
- Simpson, E. (1982). The role of H-Y as a minor transplantation antigen. *Immunology Today*, 3(4), 97–106.
- Skorska, M. N., & Bogaert, A. F. (2020). Fraternal Birth Order, Only-Child Status, and Sibling Sex Ratio Related to Sexual Orientation in the Add Health Data: A Re-analysis and Extended Findings. *Archives of Sexual Behavior*, 49(2), 557–573.
- Svarre Nielsen, H., Nybo Andersen, A.-M., Kolte, A. M., & Christiansen, O. B. (2008). A firstborn boy is suggestive of a strong prognostic factor in secondary recurrent miscarriage: A confirmatory study. *Fertility and Sterility*, 89(4), 907–911.
- Tekolf, W. A., & Shaw, S. (1983). In vitro generation of cytotoxic cells specific for human minor histocompatibility antigens by lymphocytes from a normal donor potentially primed during pregnancy. *Journal of Experimental Medicine*, 157(6), 2172–2177.
- Thomas, M. R., Williamson, R., Craft, I., Yazdani, N., & Rodeck, C. H. (1994). Y chromosome sequence DNA amplified from peripheral blood of women in early pregnancy. *The Lancet*, 343(8894), 413–414.
- Trivers, R. L. (1974). Parent-Offspring Conflict. *American Zoologist*, 14(1), 249–264.
- Trivers, R. L., & Willard, D. E. (1973). Natural Selection of Parental Ability to Vary the Sex Ratio of Offspring. *Science*, 179(4068), 90–92.

Verdijk, R. M., Kloosterman, A., Pool, J., van de Keur, M., Naipal, A. M. I. H., van Halteren, A. G. S., Brand, A., Mutis, T., & Goulmy, E. (2004). Pregnancy induces minor histocompatibility antigen-specific cytotoxic T cells: Implications for stem cell transplantation and immunotherapy. *Blood*, 103(5), 1961–1964.

Wachtel, S. S. (1984). H-Y antigen in the study of sex determination and control of sex ratio. *Theriogenology*, 21(1), 18–28.

Wachtel, S. S., Hall, J. L., Müller, U., & Chaganti, R. S. K. (1980). Serum-borne H-Y antigen in the fetal bovine freemartin. *Cell*, 21(3), 917–926.

Wang, W., Meadows, L. R., Haan, J. den, Sherman, N. E., Chen, Y., Blokland, E., Shabanowitz, J., Agulnik, A. I., Hendrickson, R. C., Bishop, C. E., & Al, E. (1995). Human H-Y: A male-specific histocompatibility antigen derived from the SMCY protein. *Science*, 269(5230), 1588–1590.

Warren, E. H., Gavin, M. A., Simpson, E., Chandler, P., Page, D. C., Disteché, C., Stankey, K. A., Greenberg, P. D., & Riddell, S. R. (2000). The Human UTY Gene Encodes a Novel HLA-B8-Restricted H-Y Antigen. *The Journal of Immunology*, 164(5), 2807–2814.

Wilson, E. O. (1978). *On Human Nature* Harvard University Press Cambridge.

Wilson, N. D., Ross, L. J. N., Crow, T. J., & Volpi, E. V. (2006). PCDH11 is X/Y homologous in *Homo sapiens* but not in *Gorilla gorilla* and *Pan troglodytes*. *Cytogenetic and Genome Research*, 114(2), 137–139.

Zenzes, M. T., Müller, U., Aschmoneit, I., & Wolf, U. (1978). Studies on H-Y antigen in different cell fractions of the testis during pubescence. *Human Genetics*, 45(3), 297–303.

Internetové zdroje

CIA – The world fact book <https://www.cia.gov/the-world-factbook/field/sex-ratio>

Český statistický úřad <https://www.czso.cz/csu/czso/zeny-a-muzi-v-datech-2020>

Our world in data <https://ourworldindata.org/grapher/sex-ratio-at-birth-males-chao-et-al>

Sexual orientation, homosexuality and bisexuality. (2013, srpen 8).

<https://web.archive.org/web/20130808032050/http://www.apa.org/helpcenter/sexual-orientation.aspx>